

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Commissioner
 US Department of Commerce
 United States Patent and Trademark
 Office, PCT
 2011 South Clark Place Room
 CP2/5C24
 Arlington, VA 22202
 ETATS-UNIS D'AMERIQUE
 in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 21 December 2000 (21.12.00)	
International application No. PCT/JP00/03135	Applicant's or agent's file reference PH-961-PCT
International filing date (day/month/year) 16 May 2000 (16.05.00)	Priority date (day/month/year) 19 May 1999 (19.05.99)
Applicant KAYAHARA, Hiroshi et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:
 05 December 2000 (05.12.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was
☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Maria Kirchner
Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Telephone No.: (41-22) 338.83.38

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/03135

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K35/78, 31/121, A61P25/28, 43/00, A23L1/30, C07C49/203, 45/78 //
C07C69/003, 69/587, 67/48

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K35/78, 31/121, A61P25/28, 43/00, A23L1/30, C07C49/203, 45/78 //
C07C69/003, 69/587, 67/48

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CA (STN), REG (STN), MEDLINE (STN), BIOSIS (DIALOG)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y A	JP, 10-77300, A (Gekkeikan Sake Co. Ltd.), 24 March, 1998 (24.03.98) (Family: none)	1-7 14, 15 8-13
X Y A	JP, 9-40693, A (Gekkeikan Sake Co. Ltd.), 10 February, 1997 (10.02.97) (Family: none)	1-7 14, 15 8-13
X Y A	JP, 9-37719, A (Gekkeikan Sake Co. Ltd.), 10 February, 1997 (10.02.97) (Family: none)	1-7 14, 15 8-13
X A	Susumu MARUYAMA "Proline-specific peptidases and proline-containing biologically active peptides", Report of the Fermentation Research Institute (Yatabe): Research Report of National Institute of Bioscience and Human-Technology, Agency of Industrial Science and Technology, Vol.0, No.75, pp.131-145, 1992	1-7 8-15
X A	Susumu MARUYAMA et al., "Prolyl Endopeptidase Inhibitory Activity of Peptides in the Repeated Sequence of Various Proline-Rich Proteins", Journal of Fermentation and	1-7 8-15

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
08 August, 2000 (08.08.00)

Date of mailing of the international search report
15 August, 2000 (15.08.00)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application N .

PCT/JP00/03135

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K35/78, 31/121, A61P25/28, 43/00, A23L1/30, C07C49/203, 45/78 //
C07C69/003, 69/587, 67/48

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K35/78, 31/121, A61P25/28, 43/00, A23L1/30, C07C49/203, 45/78 //
C07C69/003, 69/587, 67/48

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CA (STN), REG (STN), MEDLINE (STN), BIOSIS (DIALOG)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP, 10-77300, A (Gekkeikan Sake Co. Ltd.),	1-7
Y	24 March, 1998 (24.03.98)	14, 15
A	(Family: none)	8-13
X	JP, 9-40693, A (Gekkeikan Sake Co. Ltd.),	1-7
Y	10 February, 1997 (10.02.97)	14, 15
A	(Family: none)	8-13
X	JP, 9-37719, A (Gekkeikan Sake Co. Ltd.),	1-7
Y	10 February, 1997 (10.02.97)	14, 15
A	(Family: none)	8-13
X	Susumu MARUYAMA "Proline-specific peptidases and	1-7
A	proline-containing biologically active peptides", Report of the Fermentation Research Institute (Yatabe): Research Report of National Institute of Bioscience and Human-Technology, Agency of Industrial Science and Technology, Vol.0, No.75, pp.131-145, 1992	8-15
X	Susumu MARUYAMA et al., "Prolyl Endopeptidase Inhibitory	1-7
A	Activity of Peptides in the Repeated Sequence of Various Proline-Rich Proteins", Journal of Fermentation and	8-15

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
08 August, 2000 (08.08.00)

Date of mailing of the international search report
15 August, 2000 (15.08.00)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/03135

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y A	Bioengineering, Vol.74, No.3, pp.145-148, 1992, Yoshiyuki SAITO et al., "Prolyl Endopeptidase Inhibitors in Sake and Its Byproducts", J. Agric. Food. Chem, Vol.45, No.3, pp.720-724, 1997	1-7 14,15 8-13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/03135

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

Invention as set forth in claim 8 relates to the compound specified by the structural formula (II); inventions as set forth in claims 9 to 11 relate to processes for producing the compound as specified in claim 8; and inventions as set forth in claims 12 and 13 relate to uses of the compound as specified in claim 8.

However, inventions as set forth in claims 1 to 7 and claims 14 and 15 pertain respectively to cereal extracts which are excluded from the scope of the compound as specified in claim 8, use of germinating brown rice and a process for producing the same. Such being the case, these three groups of inventions (i.e., inventions of claims 9 to 11, inventions of claims 1 to 7, and inventions of claims 14 and 15) are not considered as relating a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept.

1. ☒ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest



The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.



No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/03135

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y A	Bioengineering, Vol.74, No.3, pp.145-148, 1992, Yoshiyuki SAITO et al., "Prolyl Endopeptidase Inhibitors in Sake and Its Byproducts", J. Agric. Food. Chem, Vol.45, No.3, pp.720-724, 1997	1-7 14,15 8-13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/03135

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

Invention as set forth in claim 8 relates to the compound specified by the structural formula (II); inventions as set forth in claims 9 to 11 relate to processes for producing the compound as specified in claim 8; and inventions as set forth in claims 12 and 13 relate to uses of the compound as specified in claim 8.

However, inventions as set forth in claims 1 to 7 and claims 14 and 15 pertain respectively to cereal extracts which are excluded from the scope of the compound as specified in claim 8, use of germinating brown rice and a process for producing the same. Such being the case, these three groups of inventions (i.e., inventions of claims 9 to 11, inventions of claims 1 to 7, and inventions of claims 14 and 15) are not considered as relating a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept.

1. ☒ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☒ No protest accompanied the payment of additional search fees.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference PH-961-PCT	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP00/03135	International filing date (day/month/year) 16 May 2000 (16.05.00)	Priority date (day/month/year) 19 May 1999 (19.05.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K 35/78, 31/121, A61P 25/78, 43/00, A23L 1/30, C07C 49/203, 45/78 // C07C 69/003, 69/587, 67/48		
Applicant DOMER, INC.		

<p>1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.</p> <p>2. This REPORT consists of a total of <u>6</u> sheets, including this cover sheet.</p> <p><input type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).</p> <p>These annexes consist of a total of _____ sheets.</p>	
<p>3. This report contains indications relating to the following items:</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report</p> <p>II <input type="checkbox"/> Priority</p> <p>III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</p> <p>IV <input checked="" type="checkbox"/> Lack of unity of invention</p> <p>V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</p> <p>VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited</p> <p>VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application</p> <p>VIII <input type="checkbox"/> Certain observations on the international application</p>	

Date of submission of the demand 05 December 2000 (05.12.00)	Date of completion of this report 08 August 2001 (08.08.2001)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP00/03135

I. Basis of the report

1. With regard to the **elements** of the international application:*

- ☒ the international application as originally filed
- ☐ the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the claims:
pages _____, as originally filed
pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the drawings:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the sequence listing part of the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP00/03135

IV. Lack of unity of invention

1. In response to the invitation to restrict or pay additional fees the applicant has:

- ☐ restricted the claims.
- ☒ paid additional fees.
- ☐ paid additional fees under protest.
- ☐ neither restricted nor paid additional fees.

2. ☐ This Authority found that the requirement of unity of invention is not complied with and chose, according to Rule 68.1, not to invite the applicant to restrict or pay additional fees.

3. This Authority considers that the requirement of unity of invention in accordance with Rules 13.1, 13.2 and 13.3 is

- ☐ complied with.
- ☒ not complied with for the following reasons:

See supplemental sheet for continuation of Box IV. 3.

4. Consequently, the following parts of the international application were the subject of international preliminary examination in establishing this report:

- ☒ all parts.
- ☐ the parts relating to claims Nos. _____



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP 00/03135

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: IV. 3.

Claim 8 sets forth compounds stipulated by structural formula (II); Claims 9-11 set forth a process for producing aforementioned compounds stipulated in Claim 8, and Claims 12 and 13 set forth inventions relating to applications for compounds disclosed in Claim 8.

However, Claims 1-7 and 14 and 15 set forth inventions relating to cereal extracts which do not include an aforementioned compound stipulated in Claim 8, their application to germination of rice or a process for producing the same. Therefore, these three groups of inventions - the inventions set forth in Claims 8-13 and Claims 1-7 and Claims 14 and 15 - do not constitute a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept. (PCT Rule 13.1, 13.2 and 13.3)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

international application No.

PCT/JP 00/03135

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**1. Statement**

Novelty (N)	Claims	7-13	YES
	Claims	1-6, 14, 15	NO
Inventive step (IS)	Claims	7-13	YES
	Claims	1-6, 14, 15	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-15	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

Document 1: JP, 10-77300, A (Gekkeikan Sake Co., Ltd.),
24 March 1998 (24.03.98) (Family: none)

Document 2: JP, 9-40693, A (Gekkeikan Sake Co., Ltd.), 10
February 1997 (10.02.97) (Family: none)

Document 3: JP, 9-37719, A (Gekkeikan Sake Co., Ltd.), 10
February 1997 (10.02.97) (Family: none)

Document 4: Report of the Fermentation Research Institute
(Yatabe), Vol. 0, No. 75, pp. 131-145, 1992

Document 5: Journal of Fermentation and Bioengineering,
Vol. 74, No. 3, pp. 145-148, 1992

Document 6: J. Agric. Food Chem., Vol. 45, No. 3, pp.
720-724, 1997

Documents 1-3 and 6, and Documents 4 and 5, cited in the international search report, disclose prolyl endopeptidase inhibiting activity in rice and in maize and soyabean, respectively, and the use thereof for treating disturbances of cerebral function. Therefore, Claims 1-6, 14 and 15 are not novel.

However, Documents 1-6 do not disclose compounds set forth in Claims 8-13 or the prolyl endopeptidase inhibiting activity of these compounds, or a process for producing the same. They also do not disclose the use of hexane as a solvent when extracting the active component

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP 00/03135

in cereals having prolyl endopeptidase inhibiting activity, as set forth in Claim 7. Moreover, these features would not be obvious to a person skilled in the art from the disclosures in the aforementioned documents. Therefore, aforementioned Claims 7-13 are novel and involve an inventive step.

Claims 1-15 are industrially applicable.



PATENT COOPERATION TREATY

PCT/JP00/03135

PCT

K
From the INTERNATIONAL BUREAUNOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE
COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL
APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

To:

HIRAKI, Yusuke
Toranomon No. 5 Mori Building 3rd
floor
17-1, Toranomon 1-chome
Minato-ku, Tokyo 105-0001
JAPON

Date of mailing (day/month/year)

30 November 2000 (30.11.00)

Applicant's or agent's file reference

PH-961-PCT

IMPORTANT NOTICE

International application No.

PCT/JP00/03135

International filing date (day/month/year)

16 May 2000 (16.05.00)

Priority date (day/month/year)

19 May 1999 (19.05.99)

Applicant

DOMER, INC. et al

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this Notice:

AG,AU,DZ,KP,KR,US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present Notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:

AE,AL,AM,AP,AT,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,CA,CH,CN,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,EA,EE,EP,ES,FI,GB,GD,
GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,KE,KG,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,NO,
NZ,OA,PL,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TR,TT,TZ,UA,UG,UZ,VN,YU,ZA,ZW

The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this Notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on 30 November 2000 (30.11.00) under No. WO 00/71144

REMINDER REGARDING CHAPTER II (Article 31(2)(a) and Rule 54.2)

If the applicant wishes to postpone entry into the national phase until 30 months (or later in some Offices) from the priority date, a **demand for international preliminary examination** must be filed with the competent International Preliminary Examining Authority before the expiration of 19 months from the priority date.

It is the applicant's sole responsibility to monitor the 19-month time limit.

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

REMINDER REGARDING ENTRY INTO THE NATIONAL PHASE (Article 22 or 39(1))

If the applicant wishes to proceed with the international application in the **national phase**, he must, within 20 months or 30 months, or later in some Offices, perform the acts referred to therein before each designated or elected Office.

For further important information on the time limits and acts to be performed for entering the national phase, see the Annex to Form PCT/IB/301 (Notification of Receipt of Record Copy) and Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. (41-22) 740.14.35

Authorized officer

J. Zahra

Telephone No. (41-22) 338.83.38

国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)
[PCT18条、PCT規則43、44]

出願人又は代理人 の書類記号 PH-961-PCT	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220)及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP00/03135	国際出願日 (日.月.年) 16.05.00	優先日 (日.月.年) 19.05.99
出願人(氏名又は名称) ドーマー株式会社		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 4 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. ☒ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 _____ 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT 17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☐ 請求の範囲 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

請求の範囲第8項には構造式(Ⅱ)で規定された化合物が、そして、第9-11項には前記第8項に規定された化合物の製造方法が、また、第12、13項には前記第8項に規定された化合物の用途に係わる発明が記載されている。

しかし、請求の範囲第1-7項及び第14、15項には、それぞれ前記第8項に規定された化合物には包含されない穀類の抽出物、発芽玄米の用途あるいはその製造方法に係わる発明が記載されている。したがって、これら請求項第9-11の発明と請求項第1-7及び第14、15の三つの発明群が、単一の一般的発明概念を構成するように連関している一群の発明であるとは認められない。

1. ☒ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- ☒ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. A61K35/78, 31/121, A61P25/28, 43/00, A23L1/30, C07C49/203, 45/78 // C07C69/003, 69/587, 67/48

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. A61K35/78, 31/121, A61P25/28, 43/00, A23L1/30, C07C49/203, 45/78 // C07C69/003, 69/587, 67/48

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN)、REG (STN)、MEDLINE (STN)、BIOSIS (DIALOG)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X Y A	JP, 10-77300, A(月桂冠株式会社)24. 3月. 1998(24. 03. 98) ファミリー なし	1-7 14、15 8-13
X Y A	JP, 9-40693, A(月桂冠株式会社)10. 2月. 1997(10. 02. 97) ファミリー なし	1-7 14、15 8-13
X	JP, 9-37719, A(月桂冠株式会社)10. 2月. 1997(10. 02. 97) ファミリー	1-7

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

08. 08. 00

国際調査報告の発送日

15.08.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

鶴見 秀紀

印

4 C

8415

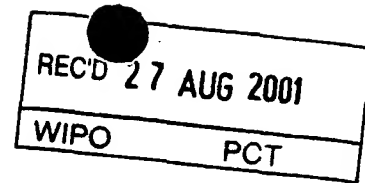
電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y A	なし	14、15 8-13
X A	Report of the Fermentation Research Institute (Yatabe):工業 技術院微生物工業研究所研究報告, vol. 0, no. 75, p131-145, 1992 "Proline-specific peptidases and proline-containing biologi- cally active peptides" Maruyama, Susumu	1-7 8-15
X A	Journal of Fermentation and Bioengineering, vol. 74, no. 3, p145 --148, 1992, "Prolyl Endopeptidase Inhibitory Activity of Pepti- des in the Repeated Sequence of Various Proline-Rich Protei- ns" Susumu Maruyama et al	1-7 8-15
X Y A	J. Agric. Food. Chem, vol. 45, no. 3, p720-724, 1997 "Prolyl Endope- ptidase Inhibitors in Sake and Its Byproducts" Yoshiyuki Sai- to et al	1-7 14、15 8-13

PCT


国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)
[PCT36条及びPCT規則70]



出願人又は代理人 の書類記号 PH-961-PCT	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP00/03135	国際出願日 (日.月.年) 16.05.00	優先日 (日.月.年) 19.05.99
国際特許分類(IPC) Int. Cl. A61K35/78, 31/121, A61P25/78, 43/00 A23L1/30, C07C49/203, 45/78 // C07C69/003, 69/587, 67/48		
出願人(氏名又は名称) ドーマー株式会社		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条(PCT36条)の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で <u>4</u> ページからなる。 <input type="checkbox"/> この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。 (PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照) この附属書類は、全部で _____ ページである。
3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。 I <input checked="" type="checkbox"/> 国際予備審査報告の基礎 II <input type="checkbox"/> 優先権 III <input type="checkbox"/> 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成 IV <input checked="" type="checkbox"/> 発明の単一性の欠如 V <input checked="" type="checkbox"/> PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明 VI <input type="checkbox"/> ある種の引用文献 VII <input type="checkbox"/> 国際出願の不備 VIII <input type="checkbox"/> 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 05.12.00	国際予備審査報告を作成した日 08.08.01	
名称及びあて先 日本国特許庁(IPEA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官(権限のある職員) 鶴見 秀紀 	4C 8415 電話番号 03-3581-1101 内線 3452

I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に
 応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
 PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- ☐ 明細書 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
 明細書 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 明細書 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 請求の範囲 第 _____ 項、 出願時に提出されたもの
 請求の範囲 第 _____ 項、 PCT19条の規定に基づき補正されたもの
 請求の範囲 第 _____ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 請求の範囲 第 _____ 項、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 図面 第 _____ ページ/図、 出願時に提出されたもの
 図面 第 _____ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 図面 第 _____ ページ/図、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)

IV. 発明の単一性の欠如

1. 請求の範囲の減縮又は追加手数料の納付の求めに対して、出願人は、

- ☐ 請求の範囲を減縮した。
- ☒ 追加手数料を納付した。
- ☐ 追加手数料の納付と共に異議を申立てた。
- ☐ 請求の範囲の減縮も、追加手数料の納付もしなかった。

2. ☐ 国際予備審査機関は、次の理由により発明の単一性の要件を満たしていないと判断したが、PCT規則68.1の規定に従い、請求の範囲の減縮及び追加手数料の納付を出願人に求めないこととした。

3. 国際予備審査機関は、PCT規則13.1、13.2及び13.3に規定する発明の単一性を次のように判断する。

- ☐ 満足する。
- ☒ 以下の理由により満足しない。

請求の範囲第8項には構造式(Ⅱ)で規定された化合物が、そして、第9-11項には前記第8項に規定された化合物の製造方法が、また、第12、13項には前記第8項に規定された化合物の用途に係わる発明が記載されている。

しかし、請求の範囲第1-7項及び第14、15項には、それぞれ前記第8項に規定された化合物には包含されない穀類の抽出物、発芽玄米の用途あるいはその製造方法に係わる発明が規定されている。したがって、これら請求項第8-13項の発明と請求項第1-7項及び第14、15項の三つの発明群が、単一の一般的発明概念を構成するように連関している一群の発明であるとは認められない。(PCT規則13.1、13.2及び13.3)

4. したがって、この国際予備審査報告書を作成するに際して、国際出願の次の部分を、国際予備審査の対象にした。

- ☒ すべての部分
- ☐ 請求の範囲 _____ に関する部分

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性(N)

請求の範囲	7-13	有
請求の範囲	1-6, 14, 15	無

進歩性(IS)

請求の範囲	7-13	有
請求の範囲	1-6, 14, 15	無

産業上の利用可能性(IA)

請求の範囲	1-15	有
請求の範囲		無

2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

- 文献1: JP, 10-77300, A(月桂冠株式会社)24. 3月. 1998(24. 03. 98)ファミリーなし
文献2: JP, 9-40693, A(月桂冠株式会社)10. 2月. 1997(10. 02. 97)ファミリーなし
文献3: JP, 9-37719, A(月桂冠株式会社)10. 2月. 1997(10. 02. 97)ファミリーなし
文献4: Report of the Fermentation Research Institute (Yatabe): 工業技術院
微生物工業研究所研究報告, vol. 0, no. 75, p131-145, 1992
文献5: Journal of Fermentation and Bioengineering, vol. 74, no. 3, p145-148,
1992
文献6: J. Agric. Food. Chem, vol. 45, no. 3, p720-724, 1997

国際調査で引用された上記文献1~3、6には米に、文献4、5にはトウモロコシ及び大豆にプロリルエンドペプチターゼ阻害活性を有すること及びその活性を利用して脳機能障害の治療に用いられることが記載されているので請求項1-6、14、15は、新規性を有しない。

そして、上記文献1~6には、請求項8-13に記載された化合物及びその化合物がプロリルエンドペプチターゼ阻害活性を有すること及びその製造製造方法が記載されていない。また、穀類からプロリルエンドペプチターゼ阻害活性を有する有効成分を抽出する際溶媒として請求項7に記載されたヘキサンを用いることも記載されていない。そして前記文献に記載された事項よりそれらは当業者にとって自明であるとも認められない。したがって、前記請求項7-13は、新規性及び進歩性を有する。

請求項1-15は、産業上の利用可能性を有する。

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2000 年 11 月 30 日 (30.11.2000)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 00/71144 A1

- (51) 国際特許分類: A61K 35/78, 31/121, A61P 25/28, 43/00, A23L 1/30, C07C 49/203, 45/78 // 69/003, 69/587, 67/48
- (21) 国際出願番号: PCT/JP00/03135
- (22) 国際出願日: 2000 年 5 月 16 日 (16.05.2000)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願平 11/138791 1999 年 5 月 19 日 (19.05.1999) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): ドーマー株式会社 (DOMER, INC.) [JP/JP]; 〒386-1213 長野県上田市大字古安曾 3507 番地 Nagano (JP).
- (72) 発明者: および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 茅原 紘 (KAWA-HARA, Hiroshi) [JP/JP]; 〒399-4501 長野県伊那市西箕輪 3900-448 Nagano (JP). 塚原 菊一 (TSUKAHARA, Kikuichi) [JP/JP]; 〒386-1325 長野県上田市大字中野 938 Nagano (JP). 稲垣 毅 (INAGAKI, Takeshi) [JP/JP]; 〒721-0973 広島県福山市南蔵王町 1-8-33 レオパレス南蔵王 204 号 Hiroshima (JP).
- (74) 代理人: 平木 祐輔, 外 (HIRAKI, Yusuke et al.); 〒105-0001 東京都港区虎ノ門一丁目 17 番 1 号 虎ノ門 5 森ビル 3F Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU,

[続葉有]

(54) Title: PROLYL ENDOPEPTIDASE INHIBITOR

(54) 発明の名称: プロリルエンドペプチダーゼ阻害剤

(57) Abstract: A prolyl endopeptidase inhibitor containing a cereal extract as the active ingredient; a process for producing this prolyl endopeptidase inhibitor; a compound having a prolyl endopeptidase inhibitory activity which is extracted and purified from cereals; a process for producing this compound; a prolyl endopeptidase inhibitor containing the above compound; foods for preventing and/or relieving brain function disorder which contain the above compound; germinating brown rice for preventing and/or relieving brain function disorder which has the prolyl endopeptidase inhibitory activity; and foods for preventing and/or relieving brain function disorder which contain the germinating brown rice.

(57) 要約:

穀類の抽出物を有効成分として含むプロリルエンドペプチダーゼ阻害剤、該プロリルエンドペプチダーゼ阻害剤の製造方法、穀類から抽出・精製されたプロリルエンドペプチダーゼ阻害活性を有する化合物、該化合物の製造方法、該化合物を含むプロリルエンドペプチダーゼ阻害剤、該化合物を含む脳機能障害予防用及び／又は改善用食品、プロリルエンドペプチダーゼ阻害活性を有する脳機能障害予防用及び／又は改善用発芽玄米、及び該発芽玄米を含む脳機能障害予防用及び／又は改善用食品。

WO 00/71144 A1



MC, NL, PT, SE), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

添付公開 類:
— 国際調査報告

明 細 書

プロリルエンドペプチダーゼ阻害剤

技術分野

本発明は、穀類の抽出物を有効成分として含むプロリルエンドペプチダーゼ阻害剤、該プロリルエンドペプチダーゼ阻害剤の製造方法、穀類から抽出・精製されたプロリルエンドペプチダーゼ阻害活性を有する化合物、該化合物の製造方法、該化合物を含むプロリルエンドペプチダーゼ阻害剤、該化合物を含む脳機能障害予防用及び／又は改善用食品、プロリルエンドペプチダーゼ阻害活性を有する脳機能障害予防用及び／又は改善用発芽玄米、及び該発芽玄米を含む脳機能障害予防用及び／又は改善用食品に関する。

背景技術

高齢化社会の到来に伴い、老人性痴呆症は社会的に、深刻な問題となっている。老人性痴呆症は、主に脳神経細胞自体の変調が原因で起こる痴呆症(神経細胞疾患性痴呆症)と、脳血管に血栓が生じるなど脳神経細胞以外の脳組織の変調が原因で起こる痴呆症(非神経細胞疾患性痴呆症)とに分けられる。神経細胞疾患性痴呆症の一つに、アルツハイマー症(AD)がある。AD患者は、徐々に脳を蝕まれ、徘徊、失禁、錯覚、妄想、記憶障害、人格崩壊などの症状が現れ、個人差があるものの発病後2年から15年で死に至る。AD患者は、運動能力にはあまり障害が現れないため徘徊などを繰り返す場合があり、介護者には重い負担となっている。ADの原因は、完全には解明されていないものの、幾つかの病理学的所見が認められている。例えば、ADの患者の脳には、著しい脳の萎縮とともに、①脳内の生理活性物質の量的異常、②神経細胞外に沈着する β アミロイドペプチドを主成分とした老人斑、③神経細胞内に蓄積する高度にリン酸化されたタウタンパク質を主成分とした神経原繊維変化が見られる。

①の脳内の生理活性物質の量的異常の原因として、プロリルエンドペプチダーゼ(PEP)による脳機能関連ペプチド分解の亢進が考えられている。PEPは、ペプチ

ド鎖中のプロリンに特異性を有し、図 1 のようにプロリンのカルボキシル基側でペプチド鎖を切断するセリンプロテアーゼである。PEP は神経伝達物質であるサブスタンス P、ニューロテンシン、記憶に関係するバソプレッシンそしてオキシトシンなど、脳を正常に保たせる働きのあるプロリンを含む脳機能関連ペプチドを切断して不活性化することにより、脳機能関連ペプチドを減少させ、脳機能を攪乱し、AD を引き起こすと推定されている。実際に、痴呆症患者のバソプレッシン量は、正常人よりも少ないことが明らかとなっている[BIOINDUSTRY 4 : 788-796(1987)]。

従って、PEP を特異的に阻害する物質は、AD を初めとして、PEP に起因する様々な障害(例えば健忘症)の予防や治療に応用できる可能性が期待され、既に、N-アシルピロリジン誘導体(特開昭 61-37764、特開昭 61-183297、特開昭 61-238775)、ピロリジンアミド誘導体[特公平 7-64834]などの合成阻害剤や、酒粕由来の PEP 阻害ペプチド[特開平 10-77300]が報告されている。しかし、安全性などの面から天然素材由来の PEP 阻害物質が求められている。

ところで、慢性疾患の増加や高齢化社会の到来から、日常的な食生活を通じて、成人病や老年病を予防することに関する意識が高まっている。現在までに、高血圧や便秘など特定の疾患を有する患者に適した食品がいくつか上市されている。しかし、老人性痴呆症や健忘症の患者に適した食品は知られていない。

発明の開示

本発明は、穀類の抽出物を有効成分として含むプロリルエンドペプチダーゼ阻害剤、該プロリルエンドペプチダーゼ阻害剤の製造方法、穀類から抽出・精製されたプロリルエンドペプチダーゼ阻害活性を有する化合物、該化合物の製造方法、該化合物を含むプロリルエンドペプチダーゼ阻害剤、該化合物を含む脳機能障害予防用及び／又は改善用食品、プロリルエンドペプチダーゼ阻害活性を有する脳機能障害予防用及び／又は改善用発芽玄米、及び該発芽玄米を含む脳機能障害予防用及び／又は改善用食品を提供することを目的とする。

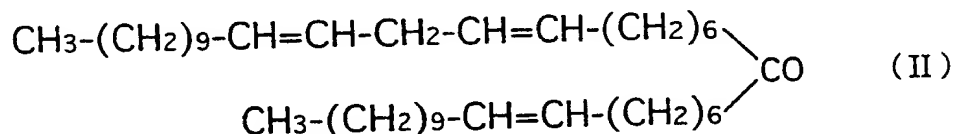
本発明者らは、上記課題を解決するため鋭意研究を行った結果、米中に PEP を特異的に阻害する成分を見出し、該成分を発芽玄米から単離精製することに成功

し、本発明を完成するに至った。

すなわち、本発明は、穀類の抽出物を有効成分として含有するプロリルエンドペプチダーゼ阻害剤である。ここで、穀類としては、米、麦、トウモロコシ、大豆、マイロ、そば、あわ、ひえ、きび、ごまなどが挙げられる。さらに、米としては発芽させたもの(例えば、発芽玄米)を用いることができる。

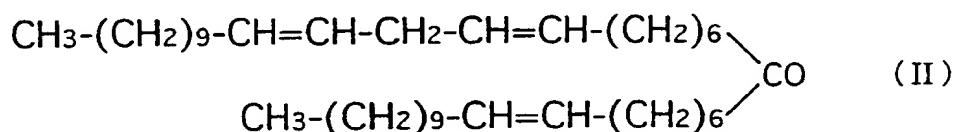
さらに、本発明は、穀類から水及び／又は有機溶媒(例えば、ヘキサンなど)で抽出することを特徴とするプロリルエンドペプチダーゼ阻害剤の製造方法である。ここで、穀類としては、米、麦、トウモロコシ、大豆、マイロ、そば、あわ、ひえ、きび、ごまなどが挙げられる。さらに、米としては発芽させたもの(例えば、発芽玄米)を用いることができる。

さらに、本発明は、次式 (II) :



で示される化合物である。

さらに、本発明は、穀類より抽出・精製することを特徴とする次式 (II) :



で示される化合物の製造方法である。ここで、穀類としては、米、麦、トウモロコシ、大豆、マイロ、そば、あわ、ひえ、きび、ごまなどが挙げられる。さらに、米としては発芽させたもの(例えば、発芽玄米)を用いることができる。

さらに、本発明は、上記化合物を有効成分として含有するプロリルエンドペプチダーゼ阻害剤である。

さらに、本発明は、上記化合物を有効成分として含有する脳機能障害予防用及び／又は改善用食品である。

さらに、本発明は、プロリルエンドペプチダーゼ阻害活性を有する脳機能障害

予防用及び／又は改善用発芽玄米である。

さらに、本発明は、プロリルエンドペプチダーゼ阻害活性を有する発芽玄米を含む脳機能障害予防用及び／又は改善用食品である。

本明細書は本願の優先権の基礎である日本国特許出願第 11-138791 号の明細書および／または図面に記載される内容を包含する。

以下本発明を詳細に説明する。

本発明の PEP 阻害物質は、従来の PEP 阻害剤とは異なり米から単離精製されたケトン又はグリセリドである。この物質は以下のようにして単離精製することができる。

1. 本発明の PEP 阻害剤

(1) PEP 阻害物質の採取源

PEP 阻害物質の採取源としては、米、麦、トウモロコシ、大豆、マイロ、そば、あわ、ひえ、きび、ごまなどの穀類、好ましくは玄米、最も好ましくは発芽玄米が挙げられる。米糠、米胚芽、米糠油などの米由来のものも用いることができる。例えば、米の銘柄としては、こしひかり、あきたこまち、中国 137 号などが挙げられるが、本発明においてはこれらに限定されない。また、発芽玄米は、原料の玄米を、5～50℃(好ましくは 30～34℃)の範囲の温度に調整した水又は温水に一定時間浸漬させることにより調製することができる。具体的には、まず玄米を温水中に浸し玄米粒が十分吸水したところで水又は温水浴から取り出して、高湿度(例えば、相対湿度 100%)の雰囲気中に 5 時間～5 日間、好ましくは 10～24 時間放置して発芽させる。ここで、温水に殺菌効果を有するオゾン溶解させたものを用いることにより、浸漬中の一般細菌や大腸菌、ウイルス等の増殖を抑えることができる。オゾン溶解水の玄米への供給方法としては、オゾン発生器(例えばオゾン社製 OZ-2-A100-30 型オゾン発生装置)によって発生したオゾンを含む空気を、玄米を収納する温水浴中に直接曝気する方法やオゾンを溶存する温水を貯留槽から循環させる方法などが挙げられる。

発芽の程度は、胚の部分に 1 mm 前後の膨らみ又は突部が視認できる程度の状態

が理想的である。発芽が完成した時点で、玄米を、乾燥又は加熱処理するか、あるいは6℃以下に冷蔵保存又は凍結保存する。

(2) 穀類成分の PEP 阻害活性の測定

穀類成分の PEP 阻害活性は、分子内部にプロリン残基を有する合成基質又は天然基質を阻害物質含有サンプルの存在下又は非存在で分解した場合の、基質分解率の差を調べることによって測定することができる。ここで、用いることができる合成基質としては、Z-Gly-Pro-p-ニトロアニリド(Z-Gly-Pro-pNA)、Z-Gly-Pro-2-ナフチルアミド、Z-Gly-Pro-4-メチルクマリニアミドなどのC末端に分解指示物質を結合したもの、天然基質としてはオキシトシン、甲状腺刺激ホルモン放出ホルモンなどの天然のペプチドを用いることができる。また、PEP はフラボバクテリウム・メニンゴセプティカム(*Flavobacterium meningosepticum*)由来のもの(フナコシ社製)やラットやマウスなど実験動物から単離精製したものなどを用いることができる。

(3) PEP 阻害成分の単離精製

上記(1)に記載の採取源からの PEP 阻害成分の分離は以下のようにして行うことができる。すなわち、まず採取源をそのままあるいは乳鉢やボールミルなどを用いて粉碎する。次いで、溶媒(例えば、蒸留水、メタノール、酢酸エチル、n-ヘキサンなど)で浸透抽出する。そして、得られた抽出液をエバポレーターなどを用いて濃縮乾固した後、適当な溶媒に溶解する。次いで、溶解物をシリカゲルなどを担体とするクロマトグラフィーカラムにアプライした後、適当な溶媒(例えば酢酸エチル/n-ヘキサン混合液など)を用いて溶出し、PEP 阻害活性のある画分を分取することにより粗精製する。さらに粗精製物を薄層クロマトグラフィーや高速液体クロマトグラフィーなどにかけることによって PEP 阻害物質を単離することができる。

(4) 構造決定

上記(3)において単離された化合物は、IR スペクトル、¹³C-NMR、¹H-NMR、相関二次元 NMR(COSY ; correlation spectroscopy)などを組み合わせた機器分析によって構造を決定することができる。なお、一旦本発明の化学構造が決定されると、その後は、化学合成によって本発明の PEP 阻害物質を得ることができる。

2. 本発明の PEP 阻害物質の食品素材としての利用

本発明の PEP 阻害物質は、PEP による脳機能関連ペプチドの分解に起因するアルツハイマー症や健忘症などの原因となる脳機能障害の予防や改善に適した特定保健用食品の製造に用いることができる。すなわち、本発明の PEP 阻害物質は、固体状食品、ゼリー状食品、液状食品など様々な形態の食品に添加することができる。ここで、固体状食品としては、パン生地；せんべい、ビスケット、クッキー等の焼き菓子用生地；そば、うどん等の麺類；かまぼこ、ちくわ等の魚肉製品；ハム、ソーセージ等の畜肉製品；粉ミルクなどが挙げられる。また、ゼリー状食品としては、フルーツゼリー；コーヒーゼリーなどが挙げられる。さらに、液状食品としては、茶；コーヒー；紅茶；発酵乳；乳酸菌飲料などが挙げられる。特に玄米茶として、広く飲用に供されてきた茶は、米の特有の風味を有し日常的に消費される茶の中でも、大きな部分を占めている。玄米茶は、通常、蒸した玄米及び／又は白米を乾燥し、そして焙煎することによって製造するが、精白米の代わりに、発芽玄米を用いることによって、痴呆予防効果のある玄米茶を製造することができる。

本発明の PEP 阻害物質を、上記食品に添加する場合、単離精製した形態以外にも、PEP 阻害物質を含有する米、玄米又は発芽玄米の粗抽出物あるいは粉末化物などの形態で 사용할 ことができる。ここで食品への添加量としては、単離精製したものを 用いる場合には 0.01～1 重量%、好ましくは 0.1～0.5 重量%、粗抽出物を用いる場合には 0.001～0.1 重量%、好ましくは 0.005～0.05 重量%、粉末化物を用いる場合には 1～10 重量%、好ましくは 2～5 重量%である。添加量は、食品の種類、形状、食品対象者等により変化するため上記範囲外で添加することもできる。

また、発芽させた玄米は白米や発芽させる前の玄米と比べて顕著に PEP 阻害物質の含有量が上昇しているため、アルツハイマー症又は健忘症予防用に常食として、発芽玄米そのものを白米の代わりに、餅や粥などの食品として用いることもできる。

3. 本発明の PEP 阻害物質を有効成分として含む医薬組成物

本発明の化合物は、PEP を阻害する活性を有するため、抗アルツハイマー症剤、抗健忘症剤などの医薬組成物として経口投与又は非経口投与により患者に適用することができる。ここで、本発明の医薬組成物は、医薬的に許容される担体又は添加物を共に含むものであってもよい。このような担体及び添加物の例としては、水、医薬的に許容される有機溶剤、コラーゲン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、カルボキシビニルポリマー、アルギン酸ナトリウム、水溶性デキストラン、カルボキシメチルスターチナトリウム、ペクチン、キサンタンガム、アラビアゴム、カゼイン、ゼラチン、寒天、グリセリン、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、ワセリン、パラフィン、ステアリルアルコール、ステアリン酸、ヒト血清アルブミン、マンニトール、ソルビトール、ラクトース、医薬添加物として許容される界面活性剤などが挙げられる。使用される添加物は、本発明の剤形に応じて上記の中から適宜又は組み合わせて選択される。

本発明の医薬組成物を経口投与する場合には、錠剤、顆粒剤、散剤、丸剤などの固形製剤、又は液剤、シロップ剤などの液体製剤などの剤形で用いることができる。特に、顆粒剤及び散剤は、カプセル剤として単位量投与形態とすることができ、液体製剤の場合は、使用する際に再溶解させる乾燥生成物にしてもよい。これら剤形のうち、固形製剤は、通常それらの組成物中に製剤上一般に使用される結合剤、賦形剤、崩壊剤、湿潤剤、滑沢剤などの添加物を含有する。また、液体製剤は、通常それらの組成物中に製剤上一般に使用される安定剤、緩衝剤、保存剤、芳香剤、着色剤、矯味剤などの添加剤を含有する。

また、本発明の医薬組成物を非経口投与する場合には、注射剤、座剤などの剤形で用いることができる。特に、注射剤の場合は、通常単位投与量アンプル又は多投与量容器の状態で提供され、使用する際には適当な担体、例えば発熱物質不含の滅菌水で再溶解させる粉体であってもよい。これらの剤形は、通常それらの組成物中に製剤上一般に使用される乳化剤、懸濁剤などの添加剤を含有する。注射手法としては、例えば点滴静脈内注射、静脈内注射、筋肉内注射、腹腔内注射、皮下注射、皮内注射などが挙げられる。

投与量は、投与対象の年齢、投与経路、投与回数により異なり広範囲に変える

ことができる。通常成人一人当たり、有効成分の量としては、経口投与の場合、一回に1～10mgの範囲で、非経口投与の場合、一回に10～50mgの範囲で投与することが望ましい。

4. 抗痴呆症効果の評価

本発明の化合物による抗痴呆症効果は、従来から行なわれているラットの迷走試験やラットの受動的回避学習試験[Int. Symp. On Pharmacology of Learning and Memory(1981)]により調べることができる。例えば、ラットの受動的回避学習試験では、まず格子状電極床と非難台からなる受動的回避試験箱内の非難台の上に、①本発明の化合物を投与したラット、②ネガティブコントロールとして生理食塩水を投与したラット、③ポジティブコントロールとして PEP 阻害活性を有することが公知の Z-プロリル-プロリナールを投与したラットを置き、ラットが床に降りたとき電流を流し、避難台に上がるまで流し続ける。そして、ラットが20秒以上台の上に留まっていた場合には、ラットは学習したとみなし、箱から取り出す。次いで、この学習ラットに健忘症誘発剤の臭化水素酸スコポラミンを投与することにより人為的に健忘症を起こさせる。次いで、再度、受動的回避試験箱内の避難台の上にそれらのラットを置き、台の上に留まっている時間を測定する。これにより、①の本発明の化合物を投与したラットの滞在時間が、②のネガティブコントロールラットの滞在時間に比べて有意に長い場合には、本発明の化合物は、抗健忘症効果があると評価し、滞在時間に有意差がない場合には、抗健忘症効果はないと評価する。また、抗健忘症効果があると評価した場合には、③の Z-プロリル-プロリナールを投与したラットの滞在時間と比較し、③よりも長ければ Z-プロリル-プロリナールよりも抗健忘症効果は高いと評価し、③よりも短ければ抗健忘症効果は低いと評価する。

図面の簡単な説明

図1は、プロリルエンドペプチダーゼによる脳機能性ペプチドの分解点を示した図である。

図2は、発芽玄米の各種溶媒抽出物中の PEP 阻害活性と抽出時間との関係を

示す図である。

図 3 は、白米、玄米及び発芽玄米の n-ヘキサン抽出物中の PEP 阻害活性と抽出時間との関係を示す図である。

発明を実施するための最良の形態

以下に、本発明を実施例を示して具体的に説明するが、本発明の範囲はこれらに限定されるものではない。

〔実施例 1〕 発芽玄米からの PEP 阻害物質の抽出

発芽玄米から、各種溶媒を用いて PEP 阻害物質の抽出を行った。すなわち、まず、長野県上田市の農家から入手した玄米(銘柄：長野こしひかり)を水洗いし、マイコン電気発芽器((株)竹越製作所製)を使用し、21 時間で発芽させた。得られた発芽玄米約 450 g に対して、蒸留水、メタノール、酢酸エチル又は n-ヘキサン 1200ml を添加し、浸透抽出を行った。抽出開始後、5 日間ごとに、各抽出物を採取し、エバポレーターを用いて溶媒を蒸発させることにより抽出物を得た。

〔実施例 2〕 発芽玄米の各種溶媒抽出物中の PEP 阻害活性

PEP 阻害活性は、Yoshimoto らの方法[T.Yoshimoto:Biochim.Biophys.Acta, 569:184-189(1979)]により測定した。すなわち、まず、実施例 1 において得られた各抽出物 0.1 g を 40% ジオキサン水溶液 2 ml に十分溶解しサンプル溶液を調製した。また、40% ジオキサンに 2mM になるように Z-Gly-Pro-pNA を溶解することにより基質溶液を調製した。さらに 0.05M リン酸ナトリウム緩衝液(pH7.0)に 0.175U/ml になるようにフラボバクテリウム・メニンゴセプティカム由来 PEP(フナコシ社製)を溶解することにより酵素溶液を調製した。さらに、10 g の TritonX-100 を 1M 酢酸ナトリウム緩衝液 95ml に溶解することにより酵素反応停止液を調製した。このようにして得られた酵素活性測定用溶液を表 1 のような組成及び順番で反応を行い、反応終了後、各反応混液の OD₄₁₀ を測定した。

表 1 PEP 阻害活性測定用反応系

	サンプル	サンプル コントロール	ブランク	ブランク コントロール
0.1Mリン酸ナトリウム緩衝液	100 μ L	100 μ L	100 μ L	100 μ L
サンプル溶液	125 μ L	125 μ L	0 μ L	0 μ L
基質溶液	125 μ L	125 μ L	125 μ L	125 μ L
ブレインキュベーション (30℃、5分)	行う	行う	行う	行う
反応停止液	0 μ L	2000 μ L	0 μ L	2000 μ L
インキュベーション (30℃、10分)	行う	行う	行う	行う
反応停止液	2000 μ L	0 μ L	2000 μ L	0 μ L
OD ₄₁₀	S	S'	B	B'

得られた各吸光度 B、B'、S、S'を以下の式に代入して PEP 阻害活性を調べた。

$$\text{PEP 阻害活性(\%)} = \{(B - B') - (S - S')\} \div (B - B') \times 100$$

図 2 に示したように、n-ヘキサン抽出物において、浸透抽出を始めてから 10 日目以降から、50%以上の高い阻害活性が確認された。他の溶媒抽出物は、20 日間浸透抽出を行っても、5 日目と同程度である 50%以下の阻害活性を示した。この結果から、n-ヘキサン抽出物には、PEP を阻害する成分が他の溶媒の抽出物に比べて多く存在しているか、又は高い PEP 阻害能を有する成分が n-ヘキサン抽出物にのみ含まれていると考えられた。また、蒸留水抽出物からではなく、有機溶媒抽出物から高い阻害活性が見られたことから、脂溶性物質が PEP 阻害に関与していると考えられる。

〔実施例 3〕 n-ヘキサン抽出物からの PEP 阻害物質の単離精製

抽出物(200mg)を少量の n-ヘキサンに溶解し、ガラスカラム(500mm×50mm)に 6 割程度まで充填したシリカゲル 60(70~230 メッシュ)の上部にアプライし、酢

酸エチル／n-ヘキサン混合溶液を 10%(100ml)から 70%(100ml)まで、10%ごとに濃度を上げて溶出した。この溶出液は、薄層クロマトグラフィーを指標に C-1 から C-6 に分画した(表 2)。これらは、濃縮後、n-ヘキサンに溶解して保存した。このうち C-2 及び C-3 を構造決定に供した。

表 2 薄層クロマトグラフィーにおける各画分由来スポットの Rf 値

Fraction	Rf 値
C-1	0.90 0.84 0.80 0.70 0.66
C-2	0.66
C-3	0.38
C-4	0.38 0.36 0.30 0.26
C-5	0.36 0.26
C-6	0.20 0.16 0.10 0.04 0.02

〔実施例 4〕 PEP 阻害物質の構造決定

(1) C-2 化合物の構造

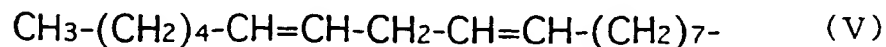
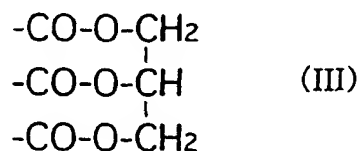
C-2 化合物の IR スペクトルでは 1740cm⁻¹ にカルボニル基の特性吸収が認められた。また、¹³-NMR による解析により、表 3 のような 35 個の炭素シグナルが認められた。

(以下余白)

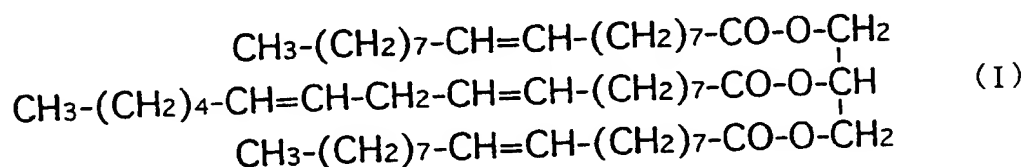
表 3 C-2 化合物の NMR スペクトル(CDCI₃)

	¹³ C - NMR	DEPT	¹ H - NMR	H数
1	173.935	C		
2	173.901	C		
3	173.483	C		
4	130.898	CH	5.34	1H
5	130.692	CH×2	5.34	2H
6	130.655	CH	5.34	1H
7	130.388	CH	5.34	1H
8	130.361	CH	5.34	1H
9	128.776	CH	5.34	1H
10	128.760	CH	5.34	1H
11	128.588	CH	5.34	1H
12	128.579	CH	5.34	1H
13	69.592	CH	5.26	1H
14	62.783	CH ₂ ×2	4.28 4.13	4H
15	34.712	CH ₂ ×3	2.37	6H
16~28	32.587~29.772	CH ₂ ×26	1.3	52H
29	27.908	CH ₂ ×2	2.02	4H
30	27.883	CH ₂ ×2	2.02	4H
31	27.858	CH ₂ ×2	2.02	4H
32	26.235	CH ₂	2.7	2H
33	25.529	CH ₂ ×3	1.6	6H
34	23.358	CH ₂ ×2	1.3	4H
35	14.774	CH ₃ ×3	0.9	9H

HMBC、COSY より得られた相関シグナルを解析することにより、C-2 化合物は下記(III~V)のような、部分構造を有するトリグリセリドであることが判明した。



さらに、光学活性がないことから、グリセリンの1位と3位に結合する脂肪酸は同じであり、H-NMRの積分比と二次元NMRから1位と3位の脂肪酸にはオレイン酸、2位の脂肪酸にはリノール酸が結合している下記(I)のような構造の1,3-ジオレオイル-2-リノレオイルグリセロール(1,3-dioleoyl-2-linoleoyl glycerol)であることが判明した。



(2) C-3 化合物の構造

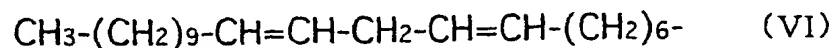
C-3 化合物の IR スペクトルでは 1700cm^{-1} にケトン基の特性吸収を認めた。そして、 ^{13}C -NMR において、表4のような28個の炭素のシグナルを認めた。

(以下余白)

表 4 C-2 化合物の NMR スペクトル(CDCI₃)

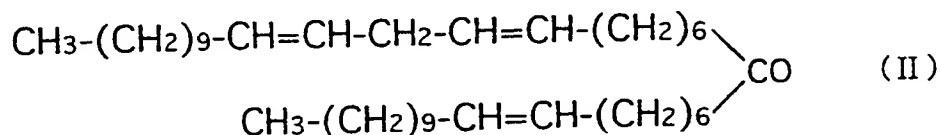
	¹³ C - NMR	DEPT	¹ H - NMR	H数
1	180.108	C		
2	130.242	CH	5.34	1H
3	130.049	CH × 2	5.34	2H
4	129.751	CH	5.34	1H
5	128.108	CH	5.34	1H
6	127.939	CH	5.34	1H
7	34.074	CH ₂ × 2	2.34	4H
8	31.934	CH ₂	1.28	2H
9	31.560	CH ₂	1.28	2H
10	29.796	CH ₂ × 2	1.28	4H
11	29.706	CH ₂ × 2	1.28	4H
12	29.613	CH ₂ × 2	1.28	4H
13	29.549	CH ₂ × 2	1.28	4H
14	29.376	CH ₂ × 2	1.28	4H
15	29.350	CH ₂ × 2	1.28	4H
16	29.343	CH ₂ × 2	1.28	4H
17	29.164	CH ₂ × 2	1.28	4H
18	29.093	CH ₂ × 2	1.28	4H
19	29.062	CH ₂ × 2	1.28	4H
20	27.247	CH ₂	2.02	2H
21	27.211	CH ₂	2.02	2H
22	27.184	CH ₂	2.02	2H
23	25.663	CH ₂	2.77	2H
24	24.695	CH ₂ × 2	1.63	4H
25	22.705	CH ₂	1.28	2H
26	22.596	CH ₂	1.28	2H
27	14.115	CH ₃	0.88	3H
28	14.072	CH ₃	0.88	3H

¹³C-NMR のシグナルを低磁場から、1~28 と番号を付け、HMBC、COSY より得られた相関シグナルを解析することにより、下式(VI及びVII)のような部分構造を推定した。





以上のことから、C-3 は下記(II)のような構造の 7-オクタデセニル-7,10-ヘニコサジエニルケトン(7-octadecenyl-7,10-henicosadienyl ketone)であることが判明した。



〔実施例 5〕 白米、玄米、発芽玄米の n-ヘキサン抽出物の PEP 阻害活性の比較

発芽玄米において、n-ヘキサン抽出物から高い PEP 阻害能が認められたことから、白米、玄米についても n-ヘキサン抽出を行い、発芽玄米抽出と比較した。21 時間蒸留水に浸漬した白米と玄米を n-ヘキサンでそれぞれ浸透抽出を行った。発芽玄米と同様、白米、玄米約 450 g に対して、抽出溶媒 1200ml の割合とした。浸透抽出を始めてから 5 日おきに、各抽出物の PEP 阻害活性を測定した。このときの溶解濃度は、抽出物 0.1 g に対して、40% ジオキサン水溶液 2 ml の割合とした。各溶媒抽出物による PEP 阻害活性の結果を図 3 に示した。

10 日目から 5 日おきの PEP 阻害能の比較を行った。白米と玄米には大きな差は認められなかったが、発芽玄米は、白米と玄米に比べ高い阻害活性を示した。このことから、玄米が発芽する段階で、PEP 阻害能を有する物質が増加したか、又は PEP 阻害能を有する物質が新たに産生されたことが考えられる。また、玄米と白米には PEP 阻害活性に差は認められなかったが、白米からの抽出量は玄米と発芽玄米からの抽出量に比べ、50% 位であるため、PEP 阻害能を有する物質は白米より玄米に多く含まれていることがわかった。

産業上の利用可能性

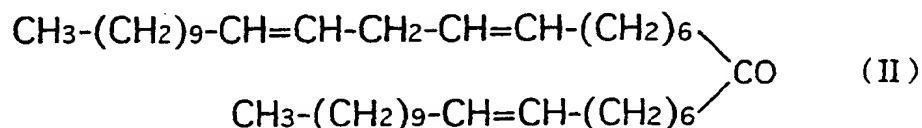
本発明により、穀類の抽出物を有効成分として含むプロリルエンドペプチダーゼ阻害剤、該プロリルエンドペプチダーゼ阻害剤の製造方法、穀類から抽出・精

製されたプロリルエンドペプチダーゼ阻害活性を有する化合物、該化合物の製造方法、該化合物を含むプロリルエンドペプチダーゼ阻害剤、該化合物を含む脳機能障害予防用及び／又は改善用食品、プロリルエンドペプチダーゼ阻害活性を有する脳機能障害予防用及び／又は改善用発芽玄米、及び該発芽玄米を含む脳機能障害予防用及び／又は改善用食品が提供される。本発明は、脳機能障害(例えば、痴呆症、健忘症など)の患者の症状の軽減に有用である。

本明細書で引用した全ての刊行物をそのまま参考として本明細書にとり入れるものとする。

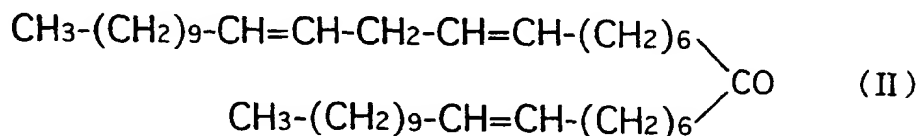
請 求 の 範 囲

1. 穀類の抽出物を有効成分として含有するプロリルエンドペプチダーゼ阻害剤。
2. 穀類が米、麦、トウモロコシ、大豆、マイロ、そば、あわ、ひえ、きび及びごまからなる群から選択される少なくとも1つである請求項1記載のプロリルエンドペプチダーゼ阻害剤。
3. 米が発芽させたものである請求項2記載のプロリルエンドペプチダーゼ阻害剤。
4. 穀類から水及び／又は有機溶媒で抽出することを特徴とするプロリルエンドペプチダーゼ阻害剤の製造方法。
5. 穀類が米、麦、トウモロコシ、大豆、マイロ、そば、あわ、ひえ、きび及びごまからなる群から選択される少なくとも1つである請求項4記載のプロリルエンドペプチダーゼ阻害剤の製造方法。
6. 米が発芽させたものである請求項5記載のプロリルエンドペプチダーゼ阻害剤の製造方法。
7. 有機溶媒がヘキサンである請求項4記載の製造方法。
8. 次式(II)：



で示される化合物。

9. 穀類より抽出・精製することを特徴とする次式 (II):



で示される化合物の製造方法。

10. 穀類が米、麦、トウモロコシ、大豆、マイロ、そば、あわ、ひえ、きび及

びごまからなる群から選択される少なくとも1つである請求項9記載の製造方法。

11. 米が発芽玄米である請求項10記載のプロリルエンドペプチダーゼ阻害剤の製造方法。

12. 請求項8記載の化合物を有効成分として含有するプロリルエンドペプチダーゼ阻害剤。

13. 請求項8記載の化合物を有効成分として含有する脳機能障害予防用及び／又は改善用食品。

14. プロリルエンドペプチダーゼ阻害活性を有する脳機能障害予防用及び／又は改善用発芽玄米。

15. プロリルエンドペプチダーゼ阻害活性を有する発芽玄米を含む脳機能障害予防用及び／又は改善用食品。

図1

サブスタンスP	Arg-Pro-Lys-Pro-↓Gln-Gln-Phe-Phe-Gly-Leu-Met-NH ₂
ニューロテンシン	Pry-Leu-Tyr-Gln-Asn-Lys-Pro-Arg-Arg-Pro-↓Tyr-Ile-Leu
バソプレッシン	Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-↓Arg-Gly-NH ₂
オキシトシン	Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-↓Leu-Gly-NH ₂

図2

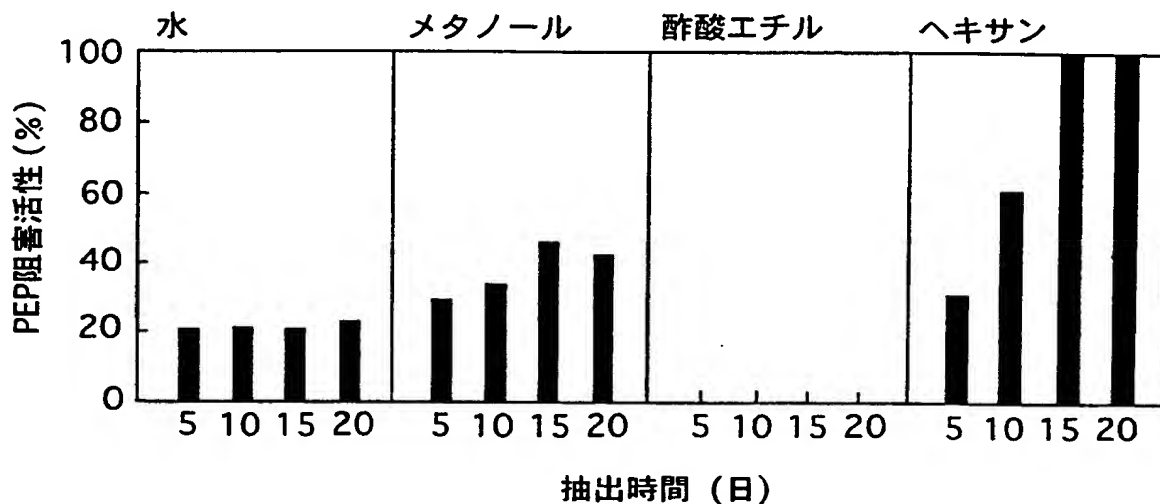
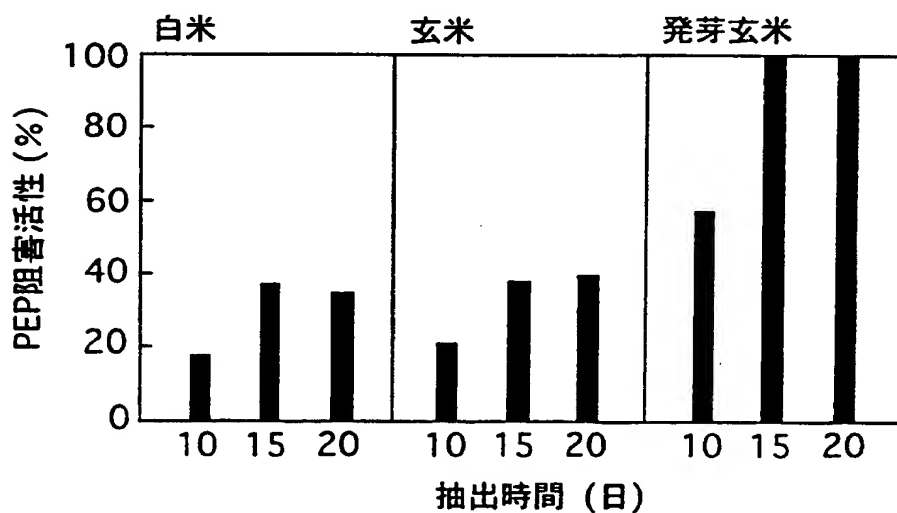


図3



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/03135

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl.⁷ A61K35/78, 31/121, A61P25/28, 43/00, A23L1/30, C07C49/203, 45/78 //
C07C69/003, 69/587, 67/48

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl.⁷ A61K35/78, 31/121, A61P25/28, 43/00, A23L1/30, C07C49/203, 45/78 //
C07C69/003, 69/587, 67/48

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CA (STN), REG (STN), MEDLINE (STN), BIOSIS (DIALOG)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y A	JP, 10-77300, A (Gekkeikan Sake Co. Ltd.), 24 March, 1998 (24.03.98) (Family: none)	1-7 14, 15 8-13
X Y A	JP, 9-40693, A (Gekkeikan Sake Co. Ltd.), 10 February, 1997 (10.02.97) (Family: none)	1-7 14, 15 8-13
X Y A	JP, 9-37719, A (Gekkeikan Sake Co. Ltd.), 10 February, 1997 (10.02.97) (Family: none)	1-7 14, 15 8-13
X A	Susumu MARUYAMA "Proline-specific peptidases and proline-containing biologically active peptides", Report of the Fermentation Research Institute (Yatabe): Research Report of National Institute of Bioscience and Human-Technology, Agency of Industrial Science and Technology, Vol.0, No.75, pp.131-145, 1992	1-7 8-15
X A	Susumu MARUYAMA et al., "Prolyl Endopeptidase Inhibitory Activity of Peptides in the Repeated Sequence of Various Proline-Rich Proteins", Journal of Fermentation and	1-7 8-15

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	understand the principle or theory underlying the invention
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
08 August, 2000 (08.08.00)

Date of mailing of the international search report
15 August, 2000 (15.08.00)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/03135

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y A	Bioengineering, Vol.74, No.3, pp.145-148, 1992, Yoshiyuki SAITO et al., "Prolyl Endopeptidase Inhibitors in Sake and Its Byproducts", J. Agric. Food. Chem, Vol.45, No.3, pp.720-724, 1997	1-7 14,15 8-13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/03135

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

Invention as set forth in claim 8 relates to the compound specified by the structural formula (II); inventions as set forth in claims 9 to 11 relate to processes for producing the compound as specified in claim 8; and inventions as set forth in claims 12 and 13 relate to uses of the compound as specified in claim 8.

However, inventions as set forth in claims 1 to 7 and claims 14 and 15 pertain respectively to cereal extracts which are excluded from the scope of the compound as specified in claim 8, use of germinating brown rice and a process for producing the same. Such being the case, these three groups of inventions (i.e., inventions of claims 9 to 11, inventions of claims 1 to 7, and inventions of claims 14 and 15) are not considered as relating a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept.

1. ☒ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☒ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K35/78, 31/121, A61P25/28, 43/00, A23L1/30, C07C49/203, 45/78 // C07C69/003, 69/587, 67/48

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K35/78, 31/121, A61P25/28, 43/00, A23L1/30, C07C49/203, 45/78 // C07C69/003, 69/587, 67/48

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN)、REG (STN)、MEDLINE (STN)、BIOSIS (DIALOG)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X Y A	JP, 10-77300, A(月桂冠株式会社) 24. 3月. 1998 (24. 03. 98) ファミリー 一なし	1-7 14、15 8-13
X Y A	JP, 9-40693, A(月桂冠株式会社) 10. 2月. 1997 (10. 02. 97) ファミリー なし	1-7 14、15 8-13
X	JP, 9-37719, A(月桂冠株式会社) 10. 2月. 1997 (10. 02. 97) ファミリー	1-7

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

08. 08. 00

国際調査報告の発送日

15.08.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

鶴見 秀紀

印

4C

8415

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y A	なし	14、15 8-13
X A	Report of the Fermentation Research Institute (Yatabe):工業 技術院微生物工業研究所研究報告, vol. 0, no. 75, p131-145, 1992 "Proline-specific peptidases and proline-containing biologi cally active peptides"Maruyama, Susumu	1-7 8-15
X A	Journal of Fermentation and Bioengineering, vol. 74, no. 3, p145 -148, 1992, "Prolyl Endopeptidase Inhibitory Activity of Pept ides in the Repeated Sequence of Various Proline-Rich Protei ns"Susumu Maruyama et al	1-7 8-15
X Y A	J. Agric. Food. Chem, vol. 45, no. 3, p720-724, 1997 "Prolyl Endope ptidase Inhibitors in Sake and Its Byproducts" Yoshiyuki Sai to et al	1-7 14、15 8-13

第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT 17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☐ 請求の範囲 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

請求の範囲第8項には構造式(Ⅱ)で規定された化合物が、そして、第9-11項には前記第8項に規定された化合物の製造方法が、また、第12、13項には前記第8項に規定された化合物の用途に係わる発明が記載されている。

しかし、請求の範囲第1-7項及び第14、15項には、それぞれ前記第8項に規定された化合物には包含されない穀類の抽出物、発芽玄米の用途あるいはその製造方法に係わる発明が記載されている。したがって、これら請求項第9-11の発明と請求項第1-7及び第14、15の三つの発明群が、単一の一般的発明概念を構成するように連関している一群の発明であるとは認められない。

1. ☒ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
☒ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

1

2

3

4

5

6